

О ВЛИЯНИИ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ НАРУЖНОГО ЛЕЧЕНИЯ АКНЕ НА СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ

*Г.С. Кантюкова, З.Р. Хисматуллина, Р.Р. Фархутдинов
Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа*

Изучалось влияние лекарственных препаратов, используемых для наружного лечения акне, на процессы свободнорадикального окисления *in vitro* методом регистрации хемилюминесценции в простых модельных системах, имитирующих генерацию активных форм кислорода и перекисное окисление липидов, а также на спонтанную люминолзависимую хемилюминесценцию гепаринизированной крови. Дана сравнительная характеристика антиоксидантной активности 10 препаратов.

Ключевые слова: акне, свободнорадикальное окисление, активные формы кислорода, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, наружная терапия.

Введение. Акне (угревая болезнь, вульгарные угри) является одним из наиболее частых заболеваний кожи. Проблема диагностики и терапии акне по-прежнему актуальна, что обусловлено широким распространением, клиническим разнообразием, косметическими дефектами, существенным влиянием на психоэмоциональную сферу пациентов [5–7, 12, 15].

Основными звеньями патогенеза акне в настоящее время признаны следующие взаимосвязанные факторы: ретенционный гиперкератоз устья волосяного фолликула, гиперсекреция кожного сала, размножение *P. acnes*, развитие перифолликулярной воспалительной реакции [2, 16, 18].

Известно, что усиление свободнорадикальных процессов и развитие состояния «окислительного стресса» (ОС) являются одним из патогенетических звеньев воспалительных процессов любого генеза. При этом снижается буферная емкость антиоксидантной защиты и нарушается ее мобилизация в ответ на повышение активности прооксидантной системы [8, 17, 21]. Наиболее мощный поток первичных свободных радикалов и вторичных продуктов их превращения исходит из гранулоцитов и макрофагов как резидентных, так и мигрирующих в кожу [11]. Вырабатываемые нейтрофилами активные формы кислорода (АФК) принимают участие в повреждении и деструкции стенок фолликула при акне [3, 11]. Кроме того, АФК инициируют процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ), сопровождающиеся образованием токсических перекисных продуктов [13].

Однако следует учитывать, что АФК контролируют ключевые метаболические процессы, являясь сигнальными молекулами. Генерируемые АФК влияют на процессы мобилизации компонен-

тов антиоксидантной защиты (АОЗ) и на синтез соединений, стимулирующих генерацию оксидантов. Это способствует поддержанию сбалансированного соотношения между антиоксидантной и прооксидантной системами (АОС и ПОС) [8].

Поиск средств, позволяющих поддерживать скорость свободнорадикального окисления (СРО) на оптимальном уровне и контроль за состоянием данного процесса, может иметь определенное значение в лечении и профилактике осложнений акне.

Перспективным методом исследования СРО является регистрация хемилюминесценции (ХЛ) – свечения, возникающего при взаимодействии свободных радикалов (СР) [10, 14].

Цель исследования – изучение влияния наружных препаратов для лечения угревой болезни на процессы СРО *in vitro*.

Материал и методы исследования. В исследовании изучалось влияние лекарственных препаратов, используемых для наружного лечения акне, на СРО *in vitro* в простых модельных системах, имитирующих наиболее распространенные реакции СРО в организме – генерацию активных форм кислорода и процессы перекисного окисления липидов. Также *in vitro* изучали влияние препаратов на спонтанную люминолзависимую хемилюминесценцию (ЛЗХЛ) гепаринизированной крови.

Регистрация свечения проводилась на приборе «хемилуминомер-ХЛМ-003» (Межвузовская лаборатория технических систем медико-биологических исследований, БГМУ, УГАТУ, Россия). Изучение влияния на генерацию АФК проводилось в модельной системе цитрат – фосфат – люминол (ЦФЛ). Исследование влияния на процессы ПОЛ проводилось в системах липосом из куриного желтка. Во всех системах процессы СРО инициировали внесением 1 мг 25 мМ сернокислого

железа, конечная концентрация Fe^{2+} в среде инкубации составила 2,5 мМ. При этом в модельной системе ЦФЛ происходило образование АФК, аналогичных тем, которые вырабатываются клетками крови при фагоцитозе [14]. В другой модельной системе из желточных липопротеидов ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав липидов, окислялись и образовывали продукты перекисного окисления. Исследуемые препараты разводили в диметилсульфоксиде для получения 5 %-ных растворов и добавляли по 0,01 и 0,1 мл полученного раствора к 10 мл тест-системы, в которой инициировали реакции СРО. Предварительно измеряли собственную хемиллюминесценцию системы без добавления исследуемых лекарственных веществ, принимая эти показатели за контрольные. АОА препаратов определяли по угнетению ХЛ модельной системы и пересчитывали в процентах от контроля.

Известно, что свечение цельной крови, в основном, обусловлено свечением нейтрофильных гранулоцитов, в которых в результате ферментативного окисления возникают активные метаболиты кислорода (гидроксильный радикал, гипохлорид, оксид азота и др.), определяющие их функциональную активность и микробицидные свойства [13, 14, 17]. Для изучения влияния препаратов на спонтанную люминолзависимую хемиллюминесценцию гепаринизированной крови отбирали 0,1 мл цельной гепаринизированной крови (из расчета 50 ед. гепарина на 1 мл крови), смешивали с 0,01 мл приготовленного раствора или с физиологическим раствором в том же объеме в качестве контроля, инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 10 мин, разводили в 2 мл физиологического раствора с люминолом.

Исследовано влияние 10 препаратов (1-изотретиноин + эритромицин гель, 2-фузидовая кислота крем, 3-клиндамицин гель, 4-азелаиновая

кислота гель, 5-гиалуронат цинка гель, 6-адапален гель, 7-бензоил пероксид гель, 8-эритромицин + + цинка ацетата дигидрат лосьон, 9-адапален + + клиндамицин гель, 10-эпигаллокатехин-3-галлат гель), используемых при наружном лечении аспе vulgaris на СРО в модельных системах *in vitro* и в крови.

Полученные данные обработаны статистически с помощью пакета компьютерных программ «Statistica for Windows (release 5.0)». На основании величины t-критерия Стьюдента и степени свободы *n* находили вероятность различия *p*. Достоверными считали данные, для которых вероятность ошибки (*p*) была меньше 0,05 ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлена типичная запись ХЛ модельной системы, в которой введение инициатора окисления – солей железа вызывает образование АФК и развивается ХЛ. Из рисунка видно, что введение инициатора сопровождается быстрой вспышкой, за которой следует латентный период, переходящий в медленную вспышку.

Наиболее информативными показателями являются светосумма и максимальная светимость.

Добавление в данную систему классического антиоксиданта мексидола вызывало дозозависимое угнетение свечения, уменьшение светосуммы свечения и амплитуды медленной вспышки. По степени изменения ХЛ при действии различных препаратов судили об их влиянии на генерацию активных форм кислорода [14].

Изменение интенсивности ХЛ модельных систем и крови при добавлении исследованных препаратов приведены в таблице.

Исследованные препараты в той или иной степени вызывали угнетение ХЛ в модельной системе, генерирующей активные формы кислорода. При этом отмечалось уменьшение показателей светосуммы и максимальной светимости.

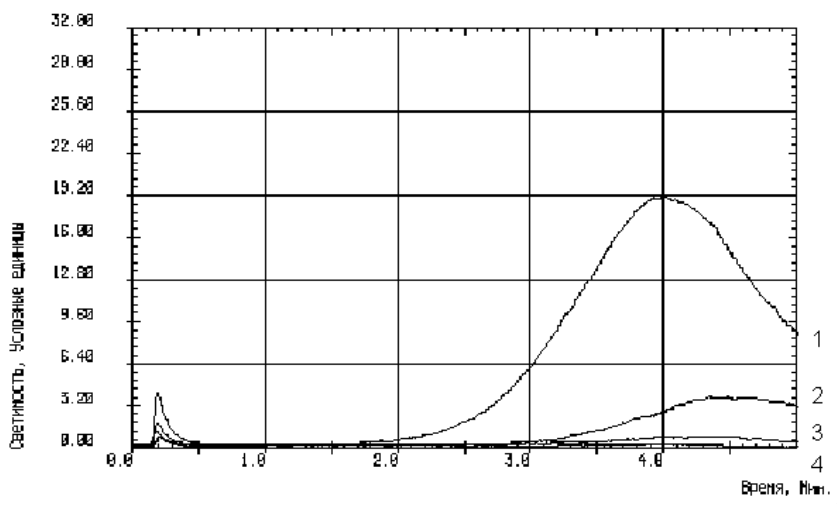


Рис. 1. Типичная запись ХЛ в модельной системе, генерирующей АФК:
1 – контроль, 2 – добавлено 0,0001 мг/мл мексидола, 3 – 0,001 мг/мл мексидола,
4 – 0,01 мг/мл мексидола, *t* – длительность ХЛ (мин), *I* – интенсивность ХЛ (отн. ед.)

Проблемы здравоохранения

Изменение светосуммы и максимальной интенсивности ХЛ модельной системы, генерирующей АФК, имитирующей ПОЛ и крови при добавлении исследованных препаратов

| № | Препарат | Объем (мл) | Модель АФК | | Модель ПОЛ | | Кровь | |
|----|---|------------|------------|------------------|------------|------------------|-------|------------------|
| | | | св. | I _{max} | св. | I _{max} | св. | I _{max} |
| 1 | Изотретиноин+ эритромицин гель | 0,01 | 53,4 | 50,3 | 66,3 | 66,2 | 68,2 | 74,1 |
| | | 0,1 | 41,2 | 45,5 | 101,0 | 99,1 | — | — |
| 2 | Фузидовая кислота крем | 0,01 | 49,6 | 72,6 | 94,7 | 94,7 | 84,2 | 87,8 |
| | | 0,1 | 58,7 | 75,5 | 89,5 | 90,5 | — | — |
| 3 | Клиндамицин гель | 0,01 | 60,2 | 60,5 | 74,0 | 78,4 | 80,6 | 79,4 |
| | | 0,1 | 68,6 | 67,1 | 102,9 | 72,3 | — | — |
| 4 | Азелаиновая кислота гель | 0,01 | 50,4 | 53,3 | 105,3 | 103,3 | 65,6 | 74,0 |
| | | 0,1 | 34,7 | 35,3 | 107,1 | 104,7 | — | — |
| 5 | Гиалуронат цинка гель | 0,01 | 52,3 | 50,7 | 98,8 | 107,1 | 58,1 | 59,5 |
| | | 0,1 | 69,4 | 62,9 | 98,4 | 99,7 | — | — |
| 6 | Адапален гель | 0,01 | 63,4 | 73,1 | 103,0 | 101,6 | 53,1 | 59,9 |
| | | 0,1 | 43,9 | 52,1 | 98,0 | 97,0 | — | — |
| 7 | Бензоил пероксид гель | 0,01 | 53,7 | 61,7 | 93,6 | 93,5 | 57,9 | 61,3 |
| | | 0,1 | 43,4 | 54,5 | 112,0 | 107,1 | — | — |
| 8 | Эритромицин + цинка ацетата дигидрат лосьон | 0,01 | 39,3 | 44,9 | 65,4 | 39,1 | 62,0 | 86,4 |
| | | 0,1 | 72,1 | 58,7 | 63,9 | 36,2 | — | — |
| 9 | Адапален + клиндамицин гель | 0,01 | 43,1 | 55,1 | 105,3 | 71,8 | 55,0 | 71,4 |
| | | 0,1 | 41,5 | 39,5 | 101,3 | 65,1 | — | — |
| 10 | Эпигаллокатехин-3-галлат гель | 0,01 | 27,4 | 35,3 | 20,3 | 4,4 | 47,6 | 14,2 |
| | | 0,1 | 27,1 | 23,4 | 19,3 | 3,5 | — | — |

Примечание. Интенсивность свечения модельных систем и крови до добавления исследованных препаратов принята за 100 %. Приведены средние данные 10 измерений. * – отмечены достоверные отличия ($p < 0,05$), св. – светосумма, I_{max} – максимальная светимость.

Степень подавления ХЛ свидетельствовала о выраженности влияния препаратов на генерацию АФК в данной модельной системе. Максимальный эффект был выявлен у эпигаллокатехин-3-галлата.

На рис. 2 представлены данные по изменению светосуммы свечения в зависимости от дозы препарата. Со снижением концентрации исследованных препаратов угнетение ХЛ становилось менее выраженным, что свидетельствует об их дозозависимом эффекте.

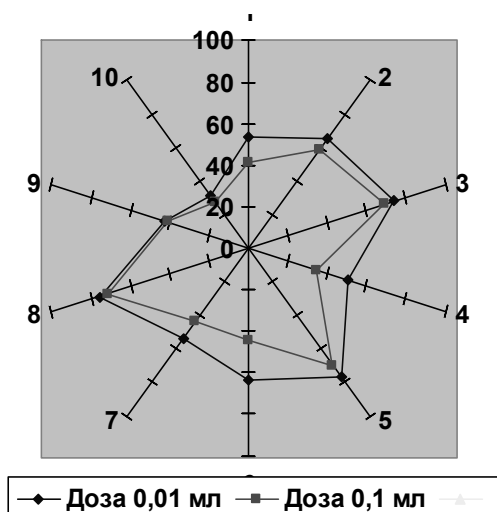


Рис. 2. АOA исследованных препаратов при добавлении 0,01 и 0,1 мл 5 %-ного раствора препарата в диметилсульфоксиде к 10 мл тест-системы, генерирующей АФК (светосумма в процентах от контроля)

В модельной системе ПОЛ (см. таблицу) эритромицин + цинка ацетата дигидрат и эпигаллокатехин-3-галлат значительно подавляли ХЛ. Остальные исследованные препараты практически не влияли на ПОЛ.

При этом увеличение концентрации препаратов также влекло за собой увеличение степени подавления ХЛ (рис. 3).

В гепаринизированной крови (см. таблицу) все исследованные препараты подавляли образование

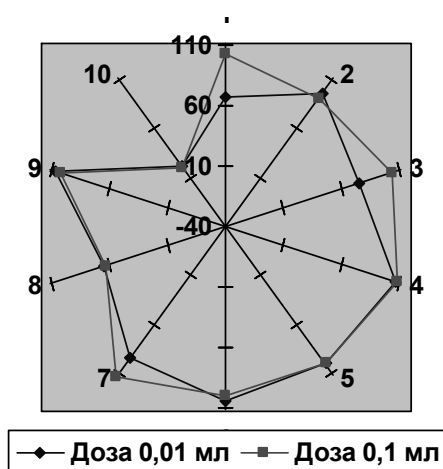


Рис. 3. АOA исследованных препаратов при добавлении 0,01 и 0,1 мл 5 %-ного раствора препарата в диметилсульфоксиде к 10 мл тест-системы ПОЛ (светосумма в процентах от контроля)

АФК. Максимальный антиоксидантный эффект был выявлен у эпигаллокатехин-3-галлата (рис. 4).

Соотношение АОС и ПОС в тканях может меняться в зависимости от состояния организма, влияния различных факторов внешней среды. В здоровом организме поддерживается сбалансированное соотношение между АОС, ПОС и самими компонентами АОЗ [8].

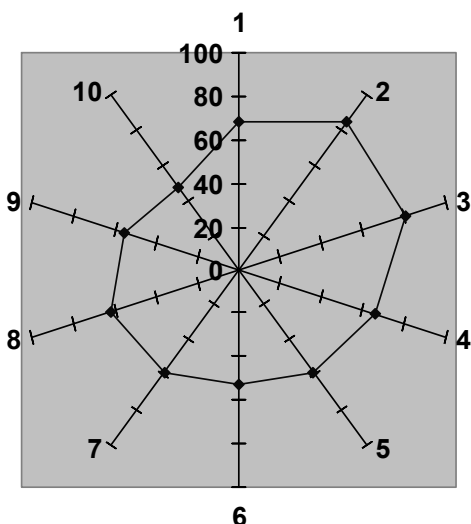


Рис. 4. АОА исследованных препаратов при добавлении 0,01 мл 5 %-ного раствора препарата в диметилсульфоксиде к 0,1 мл цельной гепаринизированной крови и к 2 мл физиологического раствора с люминолом (светосумма в процентах от контроля)

Известно, что многие широко используемые в практике лекарственные средства могут влиять на СРО непосредственно или создают благоприятные условия для изменения скорости окисления в организме [14]. Характер воздействия веществ на СРО зависит от ряда факторов: свойств препарата, дозы, длительности применения и т. д., может существенно отличаться в норме и при патологии, когда развивается несостоятельность механизмов, поддерживающих скорость окисления на постоянном уровне.

При этом некоторые из препаратов обладают прямым про- или антиоксидантным действием как *in vitro*, так и *in vivo*, непосредственно взаимодействуя с радикалами и продуктами их окисления. Другие проявляют эти свойства только при введении в организм, включаясь в метаболизм и превращаясь в активные соединения, или создают благоприятные условия для изменения СРО.

Радикалы активных форм кислорода (АФК) обладают микробицидным действием. Недостаток их продукции сопровождается генерализацией микробной инвазии и, наоборот, будучи в избытке, АФК могут поддерживать асептический воспалительный процесс [13]. Они взаимодействуют с насыщенными жирными кислотами, иницируют процессы свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4]. Накопление недоокисленных перекисных продуктов приводит к

изменению сосудистого тонуса, нарушению проницаемости мембранного барьера, а также к активации лизосомальных ферментов [1, 21]. Вследствие этого возникают расстройства микроциркуляции и локальный отек, усугубляются явления гипоксии, а также повышается воспалительный ответ и гибель клеток [13]. Разрушение стенки сальной железы с выходом ее содержимого в дерму также обуславливает картину воспаления, что проявляется в виде папул, пустул, узлов и кист [1, 3, 19, 22].

Таким образом, необходимо дальнейшее изучение влияния исследуемых препаратов на процессы СРО для получения возможности оптимизации тактики лечения пациентов с угревой болезнью и дифференцированного подхода к назначению наружных лекарственных препаратов с заранее заданными свойствами. Впоследствии возможно использование более сложных, биологических моделей.

Выводы

1. Полученные данные свидетельствуют об антиоксидантной активности всех исследованных препаратов в модельной системе, генерирующей АФК, аналогичные тем, которые вырабатываются гранулоцитами и макрофагами при воспалительных реакциях.

2. В модельной системе ПОЛ антиоксидантной активностью обладали эритромицин+ цинка ацетата дигидрат и эпигаллокатехин-3-галлат, остальные препараты не оказывали значительного влияния на ХЛ.

3. В гепаринизированной крови все исследованные препараты подавляли образование АФК.

4. Максимальная антиоксидантная активность во всех проведенных исследованиях выявлена у эпигаллокатехин-3-галлата. Эритромицин + цинка ацетата дигидрат также проявляет значительную антиоксидантную активность в модельной системе ПОЛ.

5. Применение лекарственных препаратов с учетом их воздействия на процессы свободнорадикального окисления может позволить повысить эффективность терапии и сократить сроки лечения акне vulgaris, однако результаты данной работы требуют дальнейшего продолжения изучения влияния исследуемых препаратов на процессы свободнорадикального окисления *in vitro* и *in vivo*.

Литература

1. Акне и розацеа / под ред. Н.Н. Потеева. – М.: Изд-во «Бином», 2007. – 216 с.
2. Баринаева, А.Н. Вульгарные угри: патогенез, клиника и лечение. Современное состояние проблемы / А.Н. Баринаева // Рос. семейный врач. – 2003. – № 3. – С. 30–42.
3. Биткина, О.А. Акне: этиология, патогенез, вопросы терапии / О.А. Биткина, Н.К. Никулин // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2009. – № 4 (07). – С. 67–70.

4. Болдырев, А.А. Защита белков от окислительного стресса – новая иллюзия или новая стратегия? / А.А. Болдырев // *Косметика и медицина*. – 2005. – № 2. – С. 4–12.
5. Волкова, Е.Н. Прогрессивные технологии ведения больных с акне и постакне / Е.Н. Волкова, Н.К. Осипова // *Рос. журн. кожн. и венерич. болезней*. – 2009. – № 5. – С. 53–58.
6. Дашкова, Н.А. Акне: природа возникновения и развития, вопросы систематизации и современные ориентиры в выборе терапии / Н.А. Дашкова, М.Ф. Логачев // *Вестн. дерматологии и венерологии*. – 2006. – № 4. – С. 8–13.
7. Дашкова, Н.А. Клинико-лабораторные показатели рецидивов вульгарных угрей, коррекция этих состояний / Н.А. Дашкова, М.Ф. Логачев // *Вестн. дерматологии и венерологии*. – 2006. – № 5. – С. 73–77.
8. Дубинина, Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. Ч. 2 / Е.Е. Дубинина // *Косметика и медицина*. – 2003. – № 1. – С. 10–17.
9. Им, И.С. Качество жизни у больных с вульгарными угрями / И.С. Им, А.А. Мартынов // *Вестн. последиплом. мед. образования*. – 2006. – № 2. – С. 29–31.
10. Кантюков, С.А. Состояние процессов свободно-радикального окисления при термической травме разной степени тяжести / С.А. Кантюков, Л.В. Кривохижина, Р.Р. Фархутдинов // *Вестн. ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура»*. – 2010. – Вып. 24. – № 24 (200). – С. 117–124.
11. Коркина, Л.Г. Свободные радикалы: враги или друзья? Ч. 1: Двуликий Янус свободных радикалов / Л.Г. Коркина, И.Б. Деева // *Косметика и медицина*. – 2003. – № 2. – С. 54–60.
12. Кубанова, А.А. Современные особенности патогенеза и терапии акне / А.А. Кубанова, В.А. Самсонов, О.В. Забненкова // *Вестн. дерматологии и венерологии*. – 2003. – № 1. – С. 9–15.
13. Менищикова, Е.Б. Биохимия окислительного стресса. Оксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Менищикова, Н.К. Зенков, С.М. Шергин. – Новосибирск, 1994. – 203 с.
14. Методы оценки антиокислительной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения / Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевторадзе, Ю.Л. Баймурзина и др. – М., 2005.
15. Молочков, В.А. Комплексное лечение вульгарных угрей / В.А. Молочков, М.В. Шишкова, Л.В. Корнева // *Рос. журн. кожн. и венерич. болезней*. – 2004. – № 2. – С. 61–63.
16. Молочков, В.А. Угри вульгарные: клиника, диагностика, лечение / В.А. Молочков, В. Кисина, А. Молочков // *Врач*. – 2006. – № 3. – С. 38–39.
17. Пескова, И.В. Изучение реактивности нейтрофилов и перекисного окисления липидов у пациентов с вульгарными угрями при терапии скинореном / И.В. Пескова, Ю.М. Криницина, Н.Г. Никифорова // *Вестн. дерматологии и венерологии*. – 2001. – № 3. – С. 29–30.
18. Терапия больных акне с различной тяжестью течения заболевания / Н.В. Кунгуров, М.М. Кохан, Ю.В. Кениксфест, О.В. Шабардина // *Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии*. – 2009. – № 4 (07). – С. 28–32.
19. Яровая, Н.Ф. Угревая болезнь (акне) / Н.Ф. Яровая // *Вестн. последиплом. мед. образования*. – 2007. – № 2. – С. 54–65.
20. Akatamatsu, H. The possible role of reactive oxygen species generated by neutrophils in mediating acne inflammation / H. Akatamatsu, T. Horio // *Dermatology*. – 1998. – Vol. 196. – P. 82–86.
21. Kurutas, E.V. Superoxyde dismutase and myeloperoxidase activities in polymorphonuclear leucocytes in acne vulgaris / E.V. Kurutas, O. Arican, S. Sasmaz // *Acta Dermatoven APA*. – 2005. – Vol. 14, № 2.
22. Pochi, P.E. Report of conference of acne classification // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1991. – Vol. 24. – P. 495–500.

Поступила в редакцию 17 апреля 2012 г.